

ลักษณะทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเชื้อไวรัสโรตาชนิดเอ
ในประเทศไทยช่วงปี พ.ศ. 2552-2554



นางสาวอรवलัญญ์ ไม้กลาง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



WHOLE GENOME CHARACTERIZATION AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF HUMAN
ROTAVIRUS GROUP A CIRCULATING DURING 2009-2011 IN THAILAND

Miss Ornwalan Maiklang

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medical Sciences

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

541030

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ลักษณะทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ
ของเชื้อไวรัสโรตาชนิดเอ ในประเทศไทยช่วงปี พ.ศ. 2552-
2554

โดย

นางสาวอรวรรณ ไม้กลาง

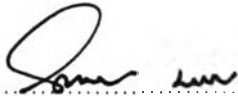
สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์การแพทย์

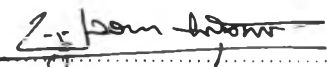
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก


ศาสตราจารย์นายแพทย์ ยง ภู่วรวรรณ

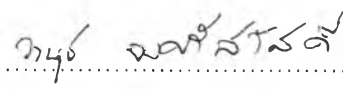
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้แนบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ ไศภณ นภารัตน์)

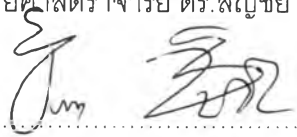
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พูลลาภ ชีพสุนทร)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ศาสตราจารย์นายแพทย์ ยง ภู่วรวรรณ)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง วรณช จงศรีสวัสดิ์)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สัตติชัย พงษ์วร)


..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีรพร ชินชัย)

อรวรรณชัย ไม้กลาง: ลักษณะทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเชื้อไวรัสโรตาชนิดเอ ในประเทศไทยช่วงปี พ.ศ. 2552-2554. (WHOLE GENOME CHARACTERIZATION AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF HUMAN ROTAVIRUS GROUP A CIRCULATING DURING 2009-2011 IN THAILAND) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ศ.นพ.ยง ภู่วรวรรณ, 116 หน้า.

เชื้อไวรัสโรตาเป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคอุจจาระร่วงในเด็ก และเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญในเด็กเล็กและเด็กทารกทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศกำลังพัฒนา สำหรับในประเทศไทยนั้น พบว่าหนึ่งในสามของผู้ป่วยเด็กอุจจาระร่วงที่เข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ ซึ่งความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับตัวเชื้อไวรัสโรตาในระดับโมเลกุล วิวัฒนาการ และระบาดวิทยาของเชื้อไวรัสโรตา จะเป็นพื้นฐานในการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคนี้ต่อไป ดังนั้น การศึกษานี้จึงได้ศึกษาถึงความชุก ลักษณะทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ของเชื้อไวรัสโรตาในกลุ่ม A ในประเทศไทย โดยศึกษาเชื้อไวรัสโรตาที่พบในผู้ป่วยเด็กอุจจาระร่วงที่เข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลสองแห่ง ในช่วงเดือนมิถุนายน 2552 – เดือนพฤษภาคม 2554 จากการศึกษาในตัวอย่างอุจจาระที่เก็บจากผู้ป่วย 562 ตัวอย่าง ด้วยวิธี RT-PCR พบว่าให้ผลบวกต่อไวรัสโรตา 250 ตัวอย่าง (44.5%) ซึ่งผลการแยกจีโนไทป์พบเป็น G3P[8] (60.4%) มากที่สุด รองลงมา คือ G1P[8] (39.2%) และ G2P[4] (0.4%) หลังจากนั้นทำการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมในเชิงโมเลกุลของไวรัสโรตาทั้ง complete genome (11 ยีน) ทั้งหมด 22 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างที่มีจีโนไทป์ในส่วนของยีน VP7 และ VP4 เป็น G1P[8] 5 ตัวอย่าง, G3P[8] 4 ตัวอย่าง, G9P[8] 2 ตัวอย่าง, G12P[8] 3 ตัวอย่าง, G12P[6] 1 ตัวอย่าง, G2P[4] 6 ตัวอย่าง และ G3P[9] 1 ตัวอย่าง ผลจาก phylogenetic analysis ของ complete nucleotide sequences ในส่วนของยีน VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6 จากตัวอย่างที่มี VP4 จีโนไทป์ P[8] และ P[6] สามารถจำแนกจีโนไทป์ได้เป็น I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1 ตามลำดับ ซึ่งมีความคล้ายกับไวรัสโรตาในคนสายพันธุ์ Wa prototype ส่วนตัวอย่างที่มีจีโนไทป์ G2P[4] สามารถจำแนกจีโนไทป์ได้เป็น I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 ตามลำดับ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับ DS-1 prototype ในขณะที่ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์ G3P[9] สามารถจำแนกจีโนไทป์ได้เป็น I3-R3-C3-M3-A3-N3-T3-E3-H6 พบว่ามีความคล้ายกับสายพันธุ์ AU-1 prototype และ T152 ที่เชื่อว่าเป็นไวรัสของแมวที่ติดต่อมาสู่คน

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์.....ลายมือชื่อนิติ.....
ปีการศึกษา 2554.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

5274840630: MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEYWORDS: HUMAN ROTAVIRUS / GENETYPE / PHYLOGENETIC ANALYSIS / CHARACTERIZATION

ORNWALAN MAIKLANG: WHOLE GENOME CHARACTERIZATION AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF HUMAN ROTAVIRUS GROUP A CIRCULATING DURING 2009-2011 IN THAILAND. ADVISOR: PROF YONG POOVORAWAN, M.D., 116 pp.

Rotaviruses are the most common cause of severe diarrhea among infants and young children worldwide, with the highest fatality rate in developing countries. In Thailand, rotavirus represents the major cause of diarrhea in infants and children, and is responsible for about one-third of diarrheal diseases in hospitalized patients. In this study, we have described the distribution and molecular characterization of rotaviruses circulating in infants and children with diarrhea, who admitted in two hospitals of Thailand between June 2009 and May 2011. Group A rotaviruses were detected in 250 (44.5%) of 562 specimens by RT-PCR. The most prevalent genotype was G3P[8] (60.4%) followed by G1P[8] (39.2%) and G2P[4] (0.4%). Twenty two samples were selected for whole genome analysis which consist of G1P[8] (5 strains), G3P[8] (4 strains), G9P[8] (2 strains), G12P[8] (3 strains), G12P[6] (1 strains), G2P[4] (6 strains) and G3P[9] (1 strains). Phylogenetic analysis was applied for each sample to classify the 11 gene segments, based on molecular classification by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG) system. Whole genomes analysis showed that most of the samples were classified into three human rotaviruses genogroups. The G1P[8], G3P[8], G9P[8], G12P[8] and G12P[6] strains carried their VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6 genotypes of I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1 respectively, Wa-like genogroup. The G2P[4] strains were linked with I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 genotypes, DS-1-like. Another human minor genogroup, Au-1-like, was found in G3P[9] link to I3-R3-C3-M3-A3-N3-T3-E3-H6 which has genetic relatedness to feline.

Field of Study: Medical Science..... Student's Signature *Ornwalan Maiklang*
 Academic Year: 2011..... Advisor's Signature *Yong Poovorawan*

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศาสตราจารย์นายแพทย์ ยง ภูววรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาสในการศึกษาระดับมหาบัณฑิต ในห้องปฏิบัติการที่ทันสมัยเพียบพร้อม ได้ชี้แนะแนวความคิดของการเป็นนักวิจัยที่ดี พร้อมทั้งกรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษาอันมีประโยชน์ และคุณค่ายิ่งต่องานวิจัยนี้มาโดยตลอด ตลอดจนให้ความกรุณาตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ทุกคนที่ให้ความร่วมมือ การเก็บรวบรวมตัวอย่างอย่างอุจจาระ สำเร็จได้ด้วยความร่วมมือของเจ้าหน้าที่แพทย์ พยาบาล และห้องปฏิบัติการจากโรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร และโรงพยาบาลชุมแพ จังหวัดขอนแก่น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัย จนบรรลุวัตถุประสงค์ในการศึกษาวิจัยระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต ในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านไวรัสวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ ความรู้ คำแนะนำ กำลังใจ ซึ่งมีค่าและประโยชน์ต่อผู้วิจัยเป็นอย่างมาก

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่บัณฑิตศึกษา คณะแพทยศาสตร์ทุกท่าน ที่กรุณาช่วยเหลือให้คำแนะนำด้านทะเบียน และประมวลผลการศึกษาดังแต่แรกเข้าศึกษาจนกระทั่งสำเร็จการศึกษา

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่เหน็ดเหนื่อยเพื่อให้โอกาสทางการศึกษาที่มีคุณค่า รวมทั้งสนับสนุน ให้ความรัก และกำลังใจจนสำเร็จการศึกษาครั้งนี้

สารบัญ

| | หน้า |
|----------------------------------------------------|----------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ฉ |
| สารบัญ..... | ช |
| สารบัญตาราง..... | ฅ |
| สารบัญภาพ..... | ญ |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... | ฐ |
| บทที่ 1 บทนำ..... | 1 |
| ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... | 1 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... | 3 |
| ขอบเขตของการวิจัย..... | 4 |
| ข้อตกลงเบื้องต้น..... | 5 |
| ข้อจำกัดของการวิจัย..... | 5 |
| คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย..... | 5 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 5 |
| วิธีดำเนินการวิจัย..... | 5 |
| ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย..... | 6 |
| บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 7 |
| แนวคิดและทฤษฎี..... | 7 |
| หลักการของ RT-PCR..... | 8 |
| เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 9 |
| ประวัติการค้นพบเชื้อไวรัสโรตา..... | 9 |
| ชีววิทยาของเชื้อไวรัสโรตา..... | 10 |
| ลักษณะรูปร่างและโครงสร้างของอนุภาคไวรัสโรตา..... | 10 |
| การจัดจำแนกเชื้อไวรัสโรตา..... | 16 |
| พยาธิกำเนิด..... | 19 |
| วงชีวิตการเพิ่มจำนวนของไวรัสโรตา..... | 20 |

| | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|------|
| การติดต่อ..... | 22 |
| ลักษณะอาการทางคลินิก..... | 22 |
| การรักษา..... | 23 |
| การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ..... | 24 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... | 25 |
| รูปแบบการวิจัย..... | 25 |
| ประชากร..... | 25 |
| การคำนวณขนาดประชากร..... | 25 |
| วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย..... | 26 |
| วิธีดำเนินการวิจัย..... | 28 |
| การเก็บรวบรวมข้อมูล..... | 39 |
| การวิเคราะห์ข้อมูล..... | 39 |
| การเผยแพร่ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์..... | 40 |
| บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... | 41 |
| ส่วนที่ 1 ผลการศึกษาความชุก และการจำแนกสายพันธุ์ไวรัสโรตาใน ประเทศไทย..... | 41 |
| ส่วนที่ 2 ผลการศึกษา complete genome (11 ยีน) ของสายพันธุ์ไวรัส โรตาในประเทศไทย..... | 57 |
| บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย..... | 83 |
| สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษาความชุก..... | 83 |
| ส่วนที่ 2 ผลการศึกษา complete genome (11 ยีน) ของสายพันธุ์ไวรัส โรตาในประเทศไทย..... | 86 |
| รายการอ้างอิง..... | 91 |
| ภาคผนวก..... | 96 |
| ภาคผนวก ก..... | 97 |
| ภาคผนวก ข..... | 98 |
| ภาคผนวก ค..... | 108 |
| ภาคผนวก ง..... | 115 |
| ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... | 116 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. | ค่า Percentage identity cut-off ที่กำหนดจีโนมโทปของทั้ง 11 ยีน..... | 17 |
| 2. | แสดงส่วนผสม และปริมาณของสารเคมีที่ใช้ในปฏิกิริยา RT-PCR เพื่อเพิ่มจำนวนยีน VP4 และ VP7 ของไวรัสโรตา..... | 30 |
| 3. | แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ ในส่วนของยีน VP7 และ VP4 สำหรับการทำให้ RT-PCR เพื่อตรวจหาการติดเชื้อไวรัสโรตา..... | 30 |
| 4. | แสดงอุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา RT-PCR ของไวรัสโรตาในส่วนของยีน VP4 และ VP7..... | 31 |
| 5. | แสดงรายละเอียดตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา complete genome สำหรับการวิจัยนี้..... | 33 |
| 6. | แสดงชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้สำหรับตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสโรตา..... | 35 |
| 7. | แสดงส่วนผสมสารเคมีในปฏิกิริยา PCR เพื่อเพิ่มจำนวนทั้ง 11 ยีนของไวรัสโรตา..... | 37 |
| 8. | แสดงอุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการทำ RT-PCR ของไวรัสโรตาในส่วนของยีน VP1, VP4, VP6 และ VP7..... | 37 |
| 9. | แสดงอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทำ RT-PCR ของไวรัสโรตาในส่วนของยีน NSP1-NSP5/6..... | 38 |
| 10. | แสดงผลการตรวจพบเชื้อไวรัสโรตา จากตัวอย่างอุจจาระที่เก็บจากผู้ป่วยเด็ก ที่เข้ารับการตรวจด้วยอาการอุจจาระร่วงทั้งสองโรงพยาบาลในสองจังหวัด ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552-พฤษภาคม 2554..... | 42 |
| 11. | แสดงผลการจำแนกจีโนมโทปด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณยีน VP4 และ VP7..... | 45 |
| 12. | แสดงผลการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสโรตาที่แยกได้จากผู้ป่วยทั้งสองโรงพยาบาลในสองจังหวัด..... | 45 |
| 13. | สรุปผลจีโนมโทปทั้ง 11 ยีนของตัวอย่างที่ศึกษา 22 ตัวอย่าง..... | 81 |
| 14. | แสดงค่า % nucleotide และ amino acid similarity ของตัวอย่าง CU365-KK/08 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ ที่พบว่ามีกรจำแนกอยู่ในจีโนมโทปเดียวกัน | 82 |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. | ขอบเขตการวิจัย..... | 4 |
| 2. | ภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของอนุภาคไวรัสโรตา..... | 10 |
| 3. | แผนภาพแสดงองค์ประกอบของอนุภาคไวรัสโรตาที่มีจีโนมเป็น segmented dsRNA 11 ทัอน และ capsid protein 3 ชั้น..... | 11 |
| 4. | ลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบของโปรตีน VP4 ซึ่งเมื่อตัดด้วย trypsin จะได้โปรตีน VP8* และ VP5*..... | 13 |
| 5. | ภาพแสดงจีโนมของไวรัสโรตาและผลผลิตโปรตีนที่ได้ ปลาย 5' ของอาร์เอ็นเอ สายบวกของแต่ละยีนทั้ง 11 segments..... | 15 |
| 6. | กลไกทางพยาธิกำเนิดของเชื้อไวรัสโรตา..... | 19 |
| 7. | แผนภาพวงชีวิตการเพิ่มจำนวนของไวรัสโรตา..... | 22 |
| 8. | แสดงโปรแกรมที่ใช้สำหรับการออกแบบไพรเมอร์..... | 34 |
| 9. | แสดงขนาดของผลผลิตจากการเพิ่มจำนวนอาร์เอ็นเอ (RNA amplification) ของไวรัสโรตาในส่วนของ VP7 และ VP4 gene..... | 41 |
| 10. | กราฟแท่งแสดงจำนวนเชื้อไวรัสโรตาที่ตรวจพบในแต่ละเดือนรวมสองโรงพยาบาลตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552-พฤษภาคม 2554..... | 43 |
| 11. | กราฟแท่งแสดงจำนวนการพบเชื้อไวรัสโรตาในแต่ละช่วงอายุของผู้ป่วยที่เข้าพักรักษาตัวรวมสองโรงพยาบาลตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552-พฤษภาคม 2554.. | 43 |
| 12. | แสดงตัวอย่างผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน VP4 ที่ได้กับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตอื่นที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม (GenBank) โดยใช้โปรแกรม BLAST..... | 44 |
| 13. | แสดงตัวอย่างผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน VP7 ที่ได้กับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตอื่นที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม (GenBank) โดยใช้โปรแกรม BLAST..... | 44 |
| 14. | กราฟแท่งแสดงความชุกของสายพันธุ์เชื้อไวรัสโรตา ที่พบในแต่ละเดือนรวมสองโรงพยาบาลตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552-พฤษภาคม 2554..... | 46 |

| ภาพที่ | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 15. Phylogenetic tree แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนยีน VP7 ของจีโนไทป์ G1 ที่พบในสองโรงพยาบาล เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 49 |
| 16. Phylogenetic tree แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนยีน VP7 ของจีโนไทป์ G2 ที่พบในโรงพยาบาลชุมแพ เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 51 |
| 17. Phylogenetic tree แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนยีน VP7 ของจีโนไทป์ G3 ที่พบในสองโรงพยาบาล เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 52 |
| 18. Phylogenetic tree แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนยีน VP4 ของจีโนไทป์ P[8] ที่พบในสองโรงพยาบาล เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 54 |
| 19. Phylogenetic tree แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนยีน VP4 ของจีโนไทป์ P[4] ที่พบในโรงพยาบาลชุมแพ เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 56 |
| 20. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนยีน VP1 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 58 |
| 21. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนยีน VP4 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 61 |
| 22. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนยีน VP6 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 64 |
| 23. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนยีน VP1 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆ ที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 67 |

| ภาพที่ | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 24. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนของ VP2 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 68 |
| 25. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนของ VP3 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 69 |
| 26. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนของ NSP1 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 71 |
| 27. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนของ NSP2 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 72 |
| 28. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนของ NSP3 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 74 |
| 29. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนของ NSP4 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 76 |
| 30. Phylogenetic tree แสดงผลการจำแนกจีโนไทป์ในส่วนของ NSP5 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้ง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์จากประเทศอื่นๆที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม..... | 79 |
| 31. กราฟเปรียบเทียบจีโนไทป์ชนิด G-type ที่พบในช่วงปี พ.ศ. 2536-2552 และผลจีโนไทป์ที่ได้จากการศึกษานี้ในช่วง 2552-2554..... | 85 |

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| คำย่อ | ความหมาย |
|--------------|------------------------------------------|
| μL | Microliter |
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool |
| bp | Base pair |
| Ca | Canine |
| Carp | Caprine |
| DEPC | Diethyl pyrocarbonate |
| DNA | Deoxyribonucleic acid |
| dNTP | Deoxyribonucleotide triphosphate |
| EDTA | Ethylene diamine tetraacetic acid |
| EtOH | Ethanol |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay |
| Fe | Feline |
| Hu | Human |
| IAA | Isoamyl alcohol |
| kDa | Kilo Dalton |
| La | Lapine |
| MEGA | Molecular Evolutionary Genetics Analysis |
| mRNA | messenger ribonucleic acid |
| ml | Milliliter |
| NaOAc | Sodium acetate |
| NSP | Non-structural protein |
| nt | Nucleotide |
| Ov | Ovine |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |

คำย่อ**ความหมาย**

RT-PCR

Reverse Transcription Polymerase chain reaction

RNA

Ribonucleic acid

Si

Simain

Tm

Melting temperature

VP

Viral protein